

生化学第一

1 構 成 員

	平成11年3月31日現在	平成12年3月31日現在
教授	1人	1人
助教授	1人	1人
助手（うち病院籍）	2人 (0人)	1人 (0人)
大学院学生（うち他講座から）	5人 (2人)	2人 (1人)
研究生	1人	1人
外国人客員研究員	0人	0人
技官	0人	0人
その他（技術補佐員等）	1人	1人
合計	11人	7人

非常勤講師	1人	1人
-------	----	----

2 教官の異動状況

- 市山 新（教授）（期間中現職。 H.12.4.1 停年退官）
 小田 敏明（助教授）（期間中現職）
 内田 千晴（助手）（期間中現職）
 鈴木 俊顕（助手）（～H 11. 3. 31。 H 11. 4. 1以降東京都臨床医学総合研究所分子腫瘍部）

3 研究業績

	平成10年度	平成11年度
原著論文数（うち邦文のもの）	3編 (0編)	11編 (0編)
そのインパクトファクター合計	7.59	41.49
論文形式のプロシーディングズ数	0編	0編
総説数（うち邦文のもの）	1編 (0編)	2編 (2編)
そのインパクトファクター合計	0	0
著書数（うち邦文のもの）	0編 (編)	0編 (編)
症例報告数（うち邦文のもの）	0編 (編)	0編 (編)
国際学会発表数	6編	6編

(1) 原著論文（当該教室所属の人全部に下線）

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Xue H-H, Fujie M, Sakaguchi T, Oda T, Ogawa H, Kneer NM, Lardy HA, Ichiyama A (1999) Flux of the L-serine metabolism in rat liver. The predominant contribution of serine dehydratase. J Biol Chem 274: 16020-16027

2. Xue H-H, Sakaguchi T, Fujie M, Ogawa H, Ichiyama A (1999) Flux of the L-serine metabolism in rabbit, human, and dog livers. Substantial contributions of both mitochondrial and peroxisomal serine:pyruvate/alanine:glyoxylate aminotransferase. *J Biol Chem* 274: 16028-16033
 3. Sai M, Baba S, Ichiyama A (1999) Possible involvement of nitric oxide in the lipopolysaccharide-induced impairment of hepatic mitochondrial respiration in vivo. *Biomed Res* 20: 169-180
 4. Li H-Q, Matsuda I, Fujise Y, Ichiyama A (1999) Short-chain acyl-CoA-dependent production of oxalate from oxaloacetate by *Burkholderia glumae*, a plant pathogen which causes grain rot and seedling rot of rice via the oxalate production. *J Biochem* 126: 243-253
 5. Sakaguchi T, Nakamura S, Suzuki S, Oda T, Ichiyama A, Baba S, Okamoto T (1999) Participation of platelet-activating factor in the lipopolysaccharide-induced liver injury in partially hepatectomized rats. *Hepatology* 30: 959-967
 6. Sakaguchi T, Nakamura S, Suzuki S, Oda T, Ichiyama A, Baba S (1999) Acute portal hypertension increases ileal vulnerability to platelet-activating factor in rats. *J Surg Res* 86: 116-122
 7. Suzuki T, Ichiyama A, Saito H, Kawakami T, Omata M, Chung CH, Kimura M, Shimbara M, Tanaka K (1999) A new 30 kDa ubiquitin-related SUMO-1 hydrolase from bovine brain. *J Biol Chem* 274: 31131-31134
 8. Maeda-Nakai E, Ichiyama A (2000) A spectrophotometric method for the determination of glycolate in urine and plasma with glycolate oxidase. *J Biochem* 127: 279-287
- インパクトファクターの合計 小計 10年度 [0] 11年度 [33.52]

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

1. Kazama-Saegusa S, Kazama JJ, Sugaya H, Takamiya H, Terano A, Ichiyama A (1998) A case of late-onset primary hyperoxaluria type 1 (PH1) presented with black liver. *Clin Nephrol* 50:184-187
2. Fujiwara T, Saito A, Suzuki M, Shinomiya H, Suzuki T, Takahashi E, Tanigami A, Ichiyama A, Chung CH, Nakamura Y, Tanaka K (1998) Identification and chromosomal assignment of USP1, a novel gene encoding a human ubiquitin-specific protease. *Genomics* 54:155-158
3. Suzuki H, Chiba T, Kobayashi M, Takeuchi M, Suzuki T, Ichiyama A, Ikenoue T, Omata M, Furuichi K, Tanaka K (1999) I κ B α ubiquitination is catalyzed by an SCF-like complex containing Skp 1, cullin-1, and two F-box/WD40-repeat proteins, β TrCP1 and β TrCP2. *Biochem Biophys Res Commun* 256: 127-132
4. Hasegawa H, Oguro K, Naito Y, Ichiyama A (1999) Iron dependence of tryptophan hydroxylase activity in RBL2H3 cells and its manipulation by chelators. *Eur J Biochem* 261: 734-739
5. Kawakami T, Suzuki T, Baek SH, Chung CH, Kawasaki H, Hirano H, Ichiyama A, Omata M,

Tanaka K (1999) Isolation and characterization of cytosolic and membrane-bound deubiquitinating enzymes from bovine brain. J Biochem 126: 612-623

6. Yokota S, Kamijo K, Oda T (1999) Degradation of overexpressed wild-type and mutant uricase in cultured cells. J Histochem Cytochem 47: 1133-1139

インパクトファクターの合計 小計 10年度 [7.59] 11年度 [7.97]

- D. 筆頭著者、共著者とも浜松医科大学に所属していなかったが、当該教室に所属する者が含まれるもの

(2) 論文形式のプロシーディングズ

- A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの
- B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）
- C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの
- D. 筆頭著者、共著者とも浜松医科大学に所属していなかったが、当該教室に所属する者が含まれるもの

(3) 総 説

- A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの
1. 市山新 (1999) 先天性高尿酸血症。生体の科学 50: 451-452
 2. 市山新 (2000) 分子レベルでの生命科学。21世紀の医学・医療 -すこやかな生と死を-, 浜松医大開学25周年記念講座, 静岡新聞社, 59-66
- B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）
- C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの
1. Tanaka K, Suzuki T, Chiba T (1998) The ligation system for ubiquitin and ubiquitin-like proteins. Mol Cell 8: 503-512
- D. 筆頭著者、共著者とも浜松医科大学に所属していなかったが、当該教室に所属する者が含まれるもの

(4) 著 書

- A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

- B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し，共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）
- C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し，共著者が当該教室に所属していたもの
- D. 筆頭著者，共著者とも浜松医科大学に所属していなかったが，当該教室に所属する者が含まれるもの

(5) 症例報告

- A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの
- B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し，共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）
- C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し，共著者が当該教室に所属していたもの
- D. 筆頭著者，共著者とも浜松医科大学に所属していなかったが，当該教室に所属する者が含まれるもの

(6) 国際学会発表

- ① Oda T., Funai T., Ihiyama A., Miura, S. : Possible involvement of chaperone-like activities in the translocation of serine:pyruvate aminotransferase across mitochondrial and peroxisomal membranes. International Conference on DYNAMICS and REGULATION of the STRESS RESPONSE, March 9-12, 1998, Kyoto, Japan .
- ② Ichiyama A., Oda T., Maeda-Nakai E. : Primary hyperoxaluria type 1 in Japan. INTERNATIONAL SYMPOSIUM. CREST RESEARCH CONFERENCE on PEROXISOMES: Biogenesis, Function, and Disease. March 12-14, 1998, Fukuoka, Japan .
- ③ Oda T., Mizuno T., Itoh K., Funai T., Ichiyama A., Miura, S. : Peroxisomal and mitochondrial targeting of serine:pyruvate/alanine:glyoxylate aminotransferase in rat liver. INTERNATIONAL SYMPOSIUM. CREST RESEARCH CONFERENCE on PEROXISOMES: Biogenesis, Function, and Disease, March 12-14, 1998, Fukuoka, Japan.
- ④ Yokota S., Kamijo Y., Oda T. : Degradation of over-expressed wild and mutant uricase in cultured cells. FIFTH JOINT MEETING of THE JAPAN SOCIETY OF HISTOCHEMISTRY AND CYTOCHEMISTRY and THE HISTOCHEMICAL SOCIETY, July 23-26, 1998, San Diego, USA.
- ⑤ Yokota S., Kamijo Y., Oda T. : Endoplasmic reticulum membrane can isolate nascent mutant uricase with a false translocation signal to mitochondria. FIFTH JOINT MEETING of THE JAPAN SOCIETY OF HISTOCHEMISTRY AND CYTOCHEMISTRY and THE HISTOCHEMICAL SOCIETY, July 23-26, 1998, San Diego, USA.

- ⑥ Yokota S., Kamijo Y., Oda T. : Isolation and degradation of nascent mutant uricase with a false translocation signal to mitochondria by endoplasmic reticulum. THIRD CONGRESS OF THE ASIAN-PACIFIC ORGANIZATION FOR CELL BIOLOGY., August 24-28, 1998, Osaka, Japan.
- ⑦ Ichiyama A. Reactions involved in oxalate production in mammals and microorganisms. 1999 FASEB (Federation of American Societies of Experimental Biology) Summer Research Conference on Calcium Oxalate in Biological Systems, August 17, 1999, Copper Mountain, Colorado, USA
- ⑧ Xue H-H, Ogawa H, Ichiyama A.: Both mitochondrial and peroxisomal serine:pyruvate/alanine:glyoxylate aminotransferase (SPT/AGT) contribute to the metabolism of L-serine in the liver. FASEB Summer Research Conference on Calcium Oxalate in Biological Systems, August 17, 1999, Copper Mountain, Colorado, USA.
- ⑨ Li H-Q, Fujise Y, Matsuda I, Ichiyama A.: A new mechanism of oxalate production found in Burkholderia glumae, a plant pathogen which causes grain rot and seedling rot of rice via oxalate. FASEB Summer Research Conference on Calcium Oxalate in Biological Systems, August 17, 1999, Copper Mountain, Colorado, USA.
- ⑩ Zhao D-M, Suda T, Chida K, Xue H-H, Ichiyama A, Nakamura H.: Effect of erythromycin on ATP-induced intracellular calcium response in A549 cells. 6th IUBMB Seoul Conference. Molecular and Cellular Network, October 10-13, 1999, Seoul, Korea.
- ⑪ Xue H-H, Ogawa H, Ichiyama A.: Both mitochondrial and peroxisomal serine:pyruvate/alanine:glyoxylate aminotransferase (SPT/AGT) contribute to the metabolism of L-serine in the liver. 6th IUBMB Seoul Conference. Molecular and Cellular Network, October 10-13, 1999, Seoul, Korea.
- ⑫ Ichiyama A.: Properties, subcellular distribution, and physiological roles of serine:pyruvate/alanine:glyoxylate aminotransferase (SPT/AGT) in the liver. 4th Urological Research Forum Okinawa, January 28-30, 2000, Ginowan-city, Okinawa.

4 特許等の出願状況

	平成10年度	平成11年度
特許取得数（出願中含む）	0件	0件

[平成10年度]

[平成11年度]

5 医学研究費取得状況

	平成10年度	平成11年度
文部省科学研究費	2件 (430万円)	2件 (300万円)
厚生省科学研究費	0件 (万円)	0件 (万円)
他政府機関による研究助成	0件 (万円)	0件 (万円)
財団助成金	0件 (万円)	0件 (万円)
受託研究または共同研究	0件 (万円)	0件 (万円)
奨学寄附金その他(民間より)	1件 (0万円)	0件 (万円)

[平成10年度]

(1) 文部省科学研究費

小田 敏明(代表者) 基盤研究(B)(2)「二つの細胞内局在化シグナルを含む蛋白における選択的局在化機構の解析」280万円(新規)

小田 敏明(代表者) 特定領域研究(A)「ペルオキシソーム酵素の膜透過時の構造解析」150万円(新規)

(2) 厚生省科学研究費

(3) 他政府機関による研究助成

(4) 財団助成金

(5) 受託研究または共同研究

[平成11年度]

(1) 文部省科学研究費

小田 敏明(代表者) 基盤研究(B)(2)「二つの細胞内局在化シグナルを含む蛋白における選択的局在化機構の解析」160万円(継続)

内田 千晴(代表者) 奨励研究(A)「二重のプロモータに支配されるセリンアミノ転移酵素遺伝子の転写開始機構」140万円(新規)

(2) 厚生省科学研究費

(3) 他政府機関による研究助成

(4) 財団助成金

(5) 受託研究または共同研究

6 特定研究などの大型プロジェクトの代表, 総括

[平成10年度]

[平成11年度]

7 学会活動

	平成10年度	平成11年度
招待講演回数	0件	2件
国際・国内シンポジウム発表数	5件*	0件
学会座長回数	0件	1件
学会開催回数	0件	0件
学会役員等回数	3件	2件

* 内3件は日本生化学会大会と日本分子生物学会のワークショップ

[平成10年度]

(1) 学会における特別講演・招待講演

(2) 国際・国内シンポジウム発表

- ① Ichiyama A., Oda T., Maeda-Nakai E. : Primary hyperoxaluria type 1 in Japan. INTERNATIONAL SYMPOSIUM. CREST RESEARCH CONFERENCE on PEROXISOMES: Biogenesis, Function, and Disease. March 12-14, 1998, Fukuoka, Japan .
- ② Yokota S., Kamijo Y., Oda T. : Degradation of over-expressed wild and mutant uricase in cultured cells. FIFTH JOINT MEETING of THE JAPAN SOCIETY OF HISTOCHEMISTRY AND CYTOCHEMISTRY and THE HISTOCHEMICAL SOCIETY, July 23-26, 1998, San Diego, USA.
- ③ 鈴木俊顕, 川上高幸, 小俣政男, 市山新, 田中啓二 (1998) ウシ脳におけるユビキチン・Nedd8・SUMO-1 を解離させる酵素群の同定。第71回日本生化学会大会ワークショップ「ユビキチン, プロテアソーム」, 10月14-17日, 名古屋
- ④ 小田敏明, 伊藤浩一, 水野卓爾, 杉山壮, 市山新, 三浦恵 (1998) In vitro オルガネラ輸送系によるラット肝セリンアミノ転移酵素のオルガネラ移行シグナルの評価。第71回日本生化学会大会ワークショップ「タンパク質の膜透過機構」, 10月14-17日, 名古屋
- ⑤ 小田敏明, 伊藤浩一, 市山新, 三浦恵 (1998) 細胞内二重局在を示すタンパク質の選択的局在化機構とプロセッシング。第21回日本分子生物学会年会ワークショップ「タンパク質のプロセッシングと局在化」, 12月16-19日, 横浜

(3) 座長をした学会名

(4) 主催する学会名

(5) 役職についている学会名とその役職

市山 新 日本生化学会理事, 日本神経化学会評議員, 日本トリプトファン学会常務理事

[平成11年度]

(1) における特別講演・招待講演

- ① Ichiyama A. Reactions involved in oxalate production in mammals and microorganisms. Introductory lecture for the Session 4 “Oxalate Synthesis” at 1999 FASEB Summer Research Conference on Calcium Oxalate in Biological Systems, August 16-20, 1999, Copper Mountain, Colorado, USA
- ② Ichiyama A. Properties, subcellular distribution, and physiological roles of serine:pyruvate/alanine:glyoxylate aminotransferase (SPT/AGT) in the liver. Plenary lecture at 4th Urological Research Forum Okinawa, January 28-30, 2000, Ginowan-city, Okinawa

(2) 国際・国内シンポジウム発表

(3) 座長をした学会名

- ① Ichiyama A. Session 4 “Oxalate Synthesis” at 1999 FASEB Summer Research Conference on Calcium Oxalate in Biological Systems, August 16-20, 1999, Copper Mountain, Colorado, USA

(4) 主催する学会名

(5) 役職についている学会名とその役職

市山 新 日本生化学会庶務担当常務理事
小田 敏明 日本生化学会中部支部会幹事

8 学術雑誌の編集への貢献

	平成10年度	平成11年度
学術雑誌編集数	1件	1件

[平成10年度]

市山 新 Biomedical Research, Editor

[平成11年度]

市山 新 Biomedical Research, Editor

9 共同研究の実施状況

	平成10年度	平成11年度
国際共同研究	1件	0件
国内共同研究	4件	4件
学内共同研究	3件	2件

[平成10年度]

(1) 国際共同研究

- ① Henry A. Lardy (ウイスクンシン大学酵素研究所) ラット肝臓におけるセリン代謝の研究

(2) 国内共同研究

- ① 小川宏文 (富山医科薬科大学医学部) : 各種動物肝臓におけるセリン代謝へのセリン：ピルビン酸／アラニン：グリオキシル酸トランスアミナーゼの関与の定量的査定
- ② 白髪宏司 (東京女子医科大学腎臓病総合医療センター), 風間順一郎 (栃木県下都賀総合病院) : 原発性高尿酸血症1型についての研究
- ③ 横田貞記 (山梨医科大学医学部) : 1) セリン：ピルビン酸／アラニン：グリオキシル酸トランスアミナーゼの細胞内局在の機構についての研究, 2) 変性蛋白質産生ストレスによる細胞構造の変化に関する研究
- ④ 三浦 恵 (横浜市立大学医学部) : セリン：ピルビン酸／アラニン：グリオキシル酸トランスアミナーゼのペルオキシソームへの移行機構の研究
- ⑤ 松田 泉 (農林水産省農業環境技術研究所) : イネもみ枯細菌病菌における尿酸生成機構の研究
- ⑥ 田中啓二 (東京都臨床医学総合研究所) : ユビキチンおよびNedd8, SUMO-1等ユビキチン類縁蛋白質の解離機構の研究

(3) 学内共同研究

- ① 中村浩淑 (第二内科) : ヒト気道上癌由来 A549 細胞におけるカルシウムシグナリングの研究
- ② 馬場正三 (第二外科) : 敗血症ラット肝臓におけるミトコンドリアの呼吸障害の機構の研究
- ③ 中村 達 (第二外科) : 肝切除後再生肝の血小板活性化因子に対する過敏反応の機構の研究

[平成11年度]

(1) 国際共同研究

(2) 国内共同研究

- ① 小川宏文 (富山医科薬科大学医学部) : 各種動物肝臓におけるセリン代謝へのセリン：ピルビン酸／アラニン：グリオキシル酸トランスアミナーゼの関与の定量的査定
- ② 横田貞記 (山梨医科大学医学部) : 1) セリン：ピルビン酸／アラニン：グリオキシル酸トランスアミナーゼの細胞内局在の機構についての研究, 2) 変性蛋白質産生ストレスに対する細胞構造の変化に関する研究

- ③ 三浦 恵（横浜市立大学医学部）：セリン：ピルビン酸／アラニン：グリオキシル酸トランスアミナーゼのペルオキシソームへの移行機構の研究
- ④ 田中啓二（東京都臨床医学総合研究所）：ユビキチンおよびNedd8, SUMO-1等ユビキチン類縁蛋白質の解離機構の研究
- ⑤ 辻省二（新潟大学医学部）、中島利博（筑波大学応用生物化学系）：基本転写因子 hTAFII130 とポリグルタミン病発症との関連

(3) 学内共同研究

- ① 中村浩淑（第二内科）：ヒト気道上癌由来 A549 細胞におけるカルシウムシグナリングの研究
- ② 中村 達（第二外科）：肝切除後再生肝の血小板活性化因子に対する過敏反応の機構の研究
- ③ 藤田公生（泌尿器科）：ヒドロキシプロリンからの尿酸生成の削減因子としてのミトコンドリアのセリン：ピルビン酸／アラニン：グリオキシル酸トランスアミナーゼの役割の検討

10 産学共同研究

	平成10年度	平成11年度
産学共同研究	0件	0件

[平成10年度]

[平成11年度]

11 受賞（学会賞等）

[平成10年度]

[平成11年度]

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. セリン：ピルビン酸／アラニン：グリオキシル酸トランスアミナーゼ (SPT/AGT) の細胞内二重局在の生理的意義に関する研究

セリン代謝とグリオキシル酸代謝の両方に関与する肝臓の SPT/AGT は、細胞内分布にも食習性に依存して動物種特異的という特徴を持ち、ヒトと草食動物ではペルオキシソーム (Ps) に、肉食動物では大部分がミトコンドリア (Mt) に、ラットではこの両オルガネラに存在する。致死性の先天性代謝異常症である原発性高尿酸血症1型の原因は本酵素の機能不全である。進化の過程で食習性に起因する代謝上の必要性に応じた本酵素のオルガネラ局在のための機構を獲得した動物種が自然選択により生き延びてきたと考えられる。草食動物における Ps 局在に関しては、植物に多く含まれるグリコール酸は肝臓の Ps で尿酸の直接の前駆体であるグリオキシル酸に酸化されるので、これをその場で効率よくグリシンに代謝することが必須であったと推定される。一方、SPT/AGT は Ps と Mt のいずれに存在してもセリン代謝に関与し得ることが明らかになった。グリオキシル酸はコラーゲンの構成アミノ酸であるヒドロキシプロリン (Hyp) からも生産されることが知られており、事実ラ

ットに多量の Hyp を投与すると尿への尿酸排泄が増加した。SPT/AGT の種特異的オルガネラ局在は効率的なグリオキシル酸代謝のためと推定される。

(薛海暉, 小川宏文¹, 坂口孝宣, 藤江三千男², 市山新, 高山達也) ¹富山医薬大医学部, ²本学機器センター

2. SPT/AGT の細胞内局在の機構についての研究

ラット肝には物理化学的, 免疫化学的, 酵素化学的諸性質が同一の SPT 分子がミトコンドリア (Mt) とペルオキシソーム (Ps) の両オルガネラにほぼ等量ずつ存在している。この局在を異にする二つの SPT のうち, 動物へのグルカゴン投与により Mt SPT のみが数十倍もの著明な選択的酵素誘導を受ける。同一酵素が異なったオルガネラに局在する機構を明らかにするために pUC8 を用いて作成した蛋白質発現ライブラリーより Mt SPT の cDNA クローンを単離し, その全塩基配列の決定により Mt 移行配列 22 アミノ酸を含む全アミノ酸配列 (414 アミノ酸残基) を明らかにした。また SPT 遺伝子クローンを単離し, プロモーター領域の塩基配列を決定し, その構造を詳しく解析した。染色体の *in situ* ハイブリダイゼーション法により, ラット SPT 遺伝子が染色体 9q34-36 の位置に単コピー存在していることが判明した。プライマー伸長法と S1 ヌクレアーゼマッピング法によりラット SPT 遺伝子のエクソン 1 の中に転写開始部位が 2 箇所あり, Mt SPT mRNA が形成される上流の転写のみがグルカゴンにより著明に促進されることが明らかとなった。転写開始位置の違いにより, Mt SPT mRNA では Mt 移行配列として翻訳される 5' 末端部分が, Ps SPT mRNA では翻訳されないことを明らかにし, Mt 移行配列の有無により Mt, あるいは Ps への二者択一的な SPT 局在がもたらされる分子機構の概要を明らかにした。また, C 末 3 アミノ酸を中心とする Ps 移行配列を特定し, その機能発揮には特に C 末付近の高次構造の維持が必要であることを示した。プロテアーゼ消化, *in vitro* ペルオキシソーム取り込み実験により, Mt 移行配列の存在が Mt SPT 前駆体の高次構造変化, そして Ps 移行配列の機能抑制をもたらし, その結果, Mt SPT 前駆体は両移行配列を持つにもかかわらず選択的に Mt へと輸送されることが推察された。

(小田敏明, 水野卓爾, 伊藤浩一, 三浦恵¹, 横田貞記², 市山新) ¹横浜市大, ²山梨医大

3. ミトコンドリア型, およびペルオキシソーム型 SPT/AGT の遺伝子発現制御機構についての研究

ラット肝セリン:ピルビン酸アミノ転移酵素 (SPT) は, 単一遺伝子の第一エクソン上に 2 箇所プロモーターを備え, それぞれが独立にミトコンドリア局在型 SPT とペルオキシソーム局在型 SPT の発現を支配するという特色を持っている。SPT 遺伝子の発現は, 同じエクソン上にある二つのプロモーターと, 対応する二つの転写開始位置の使い分けによって制御され, この使い分けは細胞への刺激の有無 (細胞内 cAMP 濃度の増減) に対応している。上流プロモーターは cAMP に著しく応答して SPT mRNA を合成誘導し, 下流プロモーターは SPTp のほぼ定常的な産生を支配する。上流プロモーターの cAMP/PKA 応答性の転写促進は, Sp1, C/EBP を含む複数の転写因子と, イニシエーター領域との相互作用によって制御されていることが示唆された。さらに上流側転写開始部位から -30 の TATA 様配列は, 上流側プロモーターにも下流側のそれにも必須ではないこと, C/EBP は下流側転写開始部位の直前に結合し下流プロモーターを活性化すること, が明らかとなった。

(内田千晴, 杉山壮, 小田敏明, 大林包幸, 市山新)

4. イネもみ枯細菌病菌におけるアシル-CoA 依存性蔞酸生成機構の研究

動物では蔞酸は何ら有益な作用を持たない代謝終産物とされているが, コーヒの American leaf spot の病原菌である *Mycena citricolor* やイネもみ枯細菌病菌 (*Burkholderia glumae*) のようにある種の微生物は多量の蔞酸を生産し, これを介して宿主に害作用を及ぼす。しかし, 動物以外の生物での蔞酸生成機構は一, 二の例を除いてほとんど不明である。本研究では, イネもみ枯細菌病 (出芽期および開花期のイネが枯れる) への対策の一助になれば幸いと考へ, *Burkholderia glumae* における蔞酸生成機構を解析し, オキサロ酢酸とアセチル-CoA のような短鎖アシル-CoA から二段階の過程で蔞酸, CoASH, およびアセト酢酸が生じる全く新しい反応を見出した。

(李恵芹, 松田和泉¹, 藤瀬裕², 市山新) ¹農林水産省農業環境技術研究所, ²本学化学

5. 変性蛋白質がもたらすストレスによる細胞構造の変化に関する研究

最近, ミトコンドリア (Mt) SPT を培養細胞中で過剰発現させたとき 小胞体膜由来の特異的な膜構造物が形成され, その中に Mt SPT が濃縮されていることを見出した。SPT 以外の酵素でも Mt 移行配列を持った酵素であれば同様な特異的膜構造物が出現し, 産物の隔離, 分解が起こっていることを示唆する結果を得た。Mt 移行配列を持った蛋白質は変性状態にあると言われているので, 我々の見出した特異的な小胞体膜構造物は, 変性蛋白質のような細胞毒性を示すと思われる蛋白質を隔離, 分解する機能, すなわち細胞内の環境維持機能を担っているのではないかと推量している。

(小田敏明, 市山新, 上条桂樹¹, 横田貞記²) ¹信州大学, ²山梨医大

6. 分光光度計によるグリコール酸測定法 (グリコール酸オキシダーゼ法) の開発

ヒトでは蔞酸の主な前駆体であるグリコール酸は, 一部はグリオキシル酸を介して蔞酸に酸化される外, 常時尿に排泄されているので, 原発性高蔞酸尿症の鑑別診断や蔞酸代謝の動態の把握のために臨床の場で測定されることが少なくない。現在, キャピラリー電気泳動法による測定が普及しつつある。しかし, そのためには高価な器械が必要であるので, どの研究室でも可能な分光光度計による測定法の開発を試みた。グリコール酸をフェニルヒドラジンの存在下でグリコール酸オキシダーゼにより酸化し, 生じたグリオキシル酸フェニルヒドラゾンを経由してフェリシアン化カリによる酸化で 1,5-ジフェニルホルマザンに変えた後, その 510-520 nm の吸光度を測定した。感度が高く (1,5-ジフェニルホルマザンの 520 nm の ϵ mM は 40-41), またグリコール酸オキシダーゼの基質特異性に適切な考慮を払うことにより, グリコール酸に特異的な測定を可能にした。

(前多英子, 市山新)

7. 原発性高蔞酸尿症 1 型に関する研究

東京女子医大 白髪宏司氏, 栃木県下都賀総合病院 風間順一郎氏等からの依頼に応じ, 彼等との共同研究で行った肝臓の SPT/AGT 活性の測定による確定診断, 尿あるいは血漿中の蔞酸の測定による経過追跡等が, 完全なものでないにしても本邦の原発性高蔞酸尿症 1 型 (PH1) の調査, 研究になった。多くは幼児期あるいは比較的若年期に発症し, 肝臓腎臓移植を受けないかぎり末期腎不全

から全身性蕁麻疹となり、ほとんどの場合 40 歳までに死に至るとされている欧米の PH1 と較べると日本の PH1 の症状は緩和という印象であり、調べた8例のうち2名は 60 歳を越えて生存していた。食物の影響と推定しているが、真の理由の解明および本研究の論文発表は平成 12 年度以降に持ち越した。

(市山新, 白髪宏司, 風間順一郎²⁾) ¹東京女子医大, ²栃木県下都賀総合病院

8. 敗血症ラット肝臓におけるミトコンドリアの呼吸障害の機構に関する研究

Lipopolysaccharide (LPS) が引き起こす多臓器障害の機構と関連して、LPS を投与したラットの肝臓は ATP 消費増大に対する代償機構と推定される hypermetabolic state を経て、ATP の産生が低下する hypometabolic state になり、やがてラットは死亡する。LPS を投与したラットの肝臓のミトコンドリアの機能、一酸化窒素 (NO) の量、NO 合成活性、ミクロソームとミトコンドリアの脂質過酸化およびこれらに対する各種阻害剤の影響を経時的に調べることにより、この hypermetabolic state における肝臓ミトコンドリアの呼吸障害には少なくとも complex IV (チトクロームオキシダーゼ) の障害が関与し、また LPS による肝内 NO の増加がこの障害に関与していると結論するに至った。

(崔晃栄, 市山新, 馬場正三¹⁾) ¹本学第二外科

9. 肝切除後再生肝の血小板活性化因子に対する過敏反応の機構の研究

本学第二外科の研究により、ラットの肝切除後の再生肝が lipopolysaccharide (LPS) 刺激により高度の障害を受けること、血小板活性化因子 (PAF) がこの病態の重要な因子であること等が明らかにされていた。第二外科と共同で行った本研究では、LPS 刺激による再生肝の障害への PAF の関与の機構を血液中のサイトカインの動態、および肝組織中の NF- κ B の活性化状態とサイトカイン遺伝子発現の面から解析した。その結果、再生肝は LPS 刺激により傷つきやすい状態にあり、この病態に PAF が持続的な NF- κ B の活性化と CINC mRNA の転写亢進を介して好中球の集積と活性化をもたらすことにより関与していることが明らかになった。

(坂口孝宣¹⁾, 鈴木昌八¹⁾, 中村達¹⁾, 小田敏明, 市山新, 馬場正三¹⁾) ¹本学第二外科

10. ヒト気道上癌由来 A549 細胞におけるカルシウムシグナリングの研究

本学第二内科の研究によりエリスロマイシン (EM) は P2X 受容体を介する Ca^{+2} 流入の選択的な阻害によりヒト気道上癌由来 A549 細胞の細胞内 Ca^{+2} 動態に影響を及ぼすことが明らかにされた。また、この研究過程において、A549 細胞は P2X の外にも多種類の Ca^{+2} 関連受容体あるいはチャンネルを発現していることが示唆された。第二内科と共同で行った本研究では、個々の受容体/チャンネルをクローン化することにより発現の確認とサブタイプの同定を行い、且つこれらの Ca^{+2} チャンネル/受容体を介する A549 細胞内 Ca^{+2} 動態を解析した。その結果、1) A549 は P2X (P2X₄), P2Y (P2Y₂, P2Y₄, P2Y₆), IP3-R (1型, 2型, 3型), L型 VDCC, 1型 RYR, hTrp (hTrp₁, hTrp₆) を発現していること、2) 非興奮性細胞である A549 においてもリアノジン感受性 Ca^{+2} ストアーが容量性 Ca^{+2} 流入の制御に関与していること、3) リアノジン感受性ストアーと IP3 感受性ストアーはおそらく CICR を介して相互に影響を及ぼすこと等が明らかになった。本研究の論文発表は平成 12 年度に持

ち越した。

(薛海暉, 趙冬梅¹, 須田隆文¹, 千田金吾¹, 市山新, 中村浩淑) ¹本学第二内科

11. ユビキチン類縁蛋白質 SUMO-1の解離機構の研究

東京都臨床医学総合研究所田中啓二部長との共同研究で、ユビキチンと同様に各種蛋白質の修飾分子として核輸送、細胞周期、信号伝達等の制御に関わるSUMO-1の解離を触媒する酵素の生化学的解析を行った。その結果、複数の SUMO-1 脱修飾活性と一つの主要な SUMO-1 前駆体プロセシング活性がウシの脳に見い出された。このうち、SUMO-1 前駆体プロセシング活性を持つ酵素は分子量約 30 k と見積もられ、SUMO-1 脱修飾活性も示した。研究担当者の鈴木は、その他、ユビキチン化や脱ユビキチン応を触媒する酵素、酵素系の研究にも関与した。

(鈴木俊顕, 田中啓二¹) ¹東京都臨床医学総合研究所

13 この期間中の特筆すべき業績, 新技術の開発

14 研究の独創性, 国際性, 継続性, 応用性

セリン：ピルビン酸／アラニン：グリオキシル酸トランスアミナーゼに関する研究は、本学生化学第一講座で種を蒔き、芽を育て、発展させてきた独自の研究であり、国際的にも高く評価されている。また、これと関連して行った蓚酸の研究では、動物における蓚酸生成についての新しい概念を提唱することができた。蓚酸カルシウムは尿路結石の 70% 以上に関与しており、生化学第一での研究成果は臨床医学にも役立つと考えている。

15 新聞, 雑誌等による報道